

A. Bensaid¹S. Bourdoulous²D. Lerhun³D. Calvez¹L. Droogman⁴D. Martinez⁵P.O. Couraud²

STVM-93

Interleukin 6 expression upon infection by *Cowdria ruminantium* of bovine brain endothelial cells *

BENSAID (A.), BOURDOULOUS (S.), LERHUN (D.), CALVEZ (D.), DROOGMAN (L.), MARTINEZ (D.), COURAUD (P.O.). Expression d'interleukine 6 après infection par *Cowdria ruminantium* de cellules endothéliales de cerveau bovin. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1993, 46 (1-2) : 195

Les interleukines sont des médiateurs protéiques solubles qui peuvent déclencher une activation cellulaire. D'abord impliquée dans l'activation des cellules T dans la production d'immunoglobulines par les cellules B, l'interleukine 6 (IL6) provoque aussi l'induction de protéines de la phase aiguë par les hépatocytes. Ainsi, l'IL6 est impliquée dans les processus inflammatoires qui sont en grande partie responsables de la pathogénie de la cowdriose. Originellement produit par des macrophages et des cellules endothéliales activées, l'IL6 agit comme un stimulant de la réponse immunitaire. Néanmoins, quand elle est produite constamment et en grandes quantités, l'IL6 provoque des réactions inflammatoires non contrôlées. Afin de tester si l'IL6 est impliquée dans la cowdriose, une culture primaire de cellules endothéliales de cerveau bovin (BBEC) a été infectée *in vitro* par *C. ruminantium*. Les cellules infectées ont été récoltées tous les jours et ce jusqu'au sixième jour où toutes les cellules sont lysées. La même expérience a été effectuée sur des BBEC qui ont été simultanément infectées et traitées avec de l'INF γ . De l'ARN a été purifié à partir de ces cellules et après électrophorèse sur gel d'agarose transféré sur un filtre de nylon. Ce filtre a été sondé avec un ADNc radiomarqué codant pour l'IL6 bovine. Des signaux à 1 kb ont été détectés seulement sur les ARN de cellules après le quatrième jour de l'infection, que celles-ci aient été traitées ou non par l'INF γ . Tous les autres échantillons, incluant l'ARN de cellules qui n'ont pas été infectées mais traitées à l'INF γ , se sont révélés négatifs pour l'expression d'IL6. Ainsi, après infection par *C. ruminantium*, l'expression d'IL6 est induite peu avant que l'effet cytopathogène n'apparaisse. A l'heure actuelle, des surnageants de milieu de culture de ces cellules sont testés pour leur capacité à induire des réponses prolifératives des cellules T.

BENSAID (A.), BOURDOULOUS (S.), LERHUN (D.), CALVEZ (D.), DROOGMAN (L.), MARTINEZ (D.), COURAUD (P.O.). Interleukin 6 expression upon infection by *Cowdria ruminantium* of bovine brain endothelial cells. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1993, 46 (1-2) : 195

Interleukins are soluble protein mediators which can trigger cell activation. First involved in T-cell activation and B-cell immunoglobulin production, interleukin 6 (IL6) was shown to induce acute phase proteins by hepatocytes. Thus, IL6 is involved in inflammatory processes which account for most of the pathogeny encountered in cowdriosis. Produced primarily by activated macrophages and endothelial cells, IL6 acts as a "booster" of immune responses. However, when produced constantly and in high quantities, IL6 provokes uncontrolled inflammatory reactions. To test whether IL6 is implied in cowdriosis, a primary culture of bovine brain endothelial cells (BBEC) was infected *in vitro* by *C. ruminantium*. Infected cells were harvested every day until day 6 in which all cells were lysed. The same experiment was on BBEC which were simultaneously infected and treated with γ INF. RNA was purified from these cells and after agarose gel electrophoresis, blotted onto a nylon filter. The filter was probed with a radiolabeled cDNA coding for the bovine IL6. Signals at 1 kb were detected only in RNA of cells collected 4 days after infection treated or not by γ INF. All other samples, including RNA of cells which were not infected but treated with γ INF, revealed to be negative for IL6 expression. Thus, upon infection by *C. ruminantium* IL6 expression is induced shortly before the cytopathogenic effect occurs. Currently, culture media supernatants of these cells are being tested for their capacity to induce T-cell proliferative responses.

BENSAID (A.), BOURDOULOUS (S.), LERHUN (D.), CALVEZ (D.), DROOGMAN (L.), MARTINEZ (D.), COURAUD (P.O.). Expresión de la interleukina 6 sobre la infección de *Cowdria ruminantium* en células de endotelio cerebral bovino. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1993, 46 (1-2) : 195

Las interleukinas son mediadores de proteínas solubles, capaces de provocar la activación celular. Inicialmente se les atribuyó la activación de células T y la producción de inmunoglobulinas de células B, sin embargo, se ha demostrado que la interleukina 6 (IL6) induce la fase protéica aguda en los hepatocitos. La IL6 se encuentra involucrada en procesos inflamatorios, causantes de una gran parte de la patología encontrada en la cowdriosis. Las IL6, producidas en forma primaria por los macrófagos y las células endoteliales, actúan como apoyo para las reacciones inmunológicas. Sin embargo, cuando la IL6 es producida constantemente y en grandes cantidades, se producen reacciones inflamatorias incontrolables. Con el fin de determinar si la IL6 se encuentra involucrada en la cowdriosis, se infectó *in vitro* un cultivo primario de células de endotelio cerebral bovino (BBEC) con *C. ruminantium*. Las células infectadas se colectaron todos los días, hasta el sexto, día en el que se provocó la lisis de todas las células. El mismo experimento se realizó en BBEC infectadas y tratadas simultáneamente con γ INF. El ARN de estas células se purificó, se sometió a una electroforesis en agar gel y luego se secó en un filtro de nylon. Este filtro se probó con un codificador marcado con ADNc para la IL6 bovina. Solamente se observaron señales a 1 kb en las células recolectadas 4 días post infección, tratadas o no con γ INF. Todas las otras muestras, incluyendo el ARN de células no infectadas, pero tratadas con γ INF, se revelaron negativas a la expresión de la IL6. La IL6 se expresa en las infecciones por *C. ruminantium* poco tiempo después de la aparición del efecto citopatogénico. Actualmente, se prueba la capacidad de inducir respuestas de células T proliferativas con los sobrenadantes de los medios de cultivo de estas células.

1. CIRAD-EMVT, 10 rue Pierre-Curie, 94704 Maisons-Alfort Cedex, France.

2. CNRS, 22 rue Méchain, 75014 Paris, France.

3. INRA, 7 av. du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort Cedex, France.

4. ULB, Rhode-Saint-Genese, Belgique.

5. CIRAD-EMVT, BP 1232, 97185 Pointe-à-Pitre Cedex, Guadeloupe.

* Seuls les résumés de cette communication sont publiés dans ce volume.